

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tentang Tanaman Jarak Merah (*Jatropha Gossypifolia L*)

Jatropha gossypifolia L termasuk tanaman dengan famili *Euphorbiaceae*, dikenal diseluruh dunia sebagai “bellyache bush” atau “black physicnut”. Tanaman ini termasuk spesies pantropical berasal dari Amerika Selatan yang dibudidayakan di negara-negara tropis di seluruh dunia. Umumnya tumbuh liar di tepi jalan dan pada tempat-tempat terbuka yang terkena sinar matahari pada daerah dataran rendah. Tanaman ini berasal dari kata Yunani “*jatros*”, yang berarti “dokter” dan “*trophe*”, yang berarti “makanan”, yang berhubungan dengan penggunaan obat (Silva, 2014).

2.1.1. Taksonomi Tanaman

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Jatropha</i>
Spesies	: <i>Jatropha gossypifolia L.</i>



A

B

Gambar 2.1 (A) Daun *Jatropha gossypifolia* (B) Tanaman *Jatropha gossypifolia* (Medicinal plants, 2013).

2.1.2. Nama Daerah

Jatropha gossypifolia biasa disebut dengan tanaman jarak merah atau jarak cina. Di Indonesia jarak merah dikenal dengan sebutan antara lain jarak kosta merah, jarak landi, jarak cina (Jawa); kaleke bacu, kaleke jharak, kaleke jharat (Madura); dan jarak ulung (Lampung) (Utami, 2008). Di Amerika, *J.gossypifolia* dikenal dengan sebutan “ratanjot” atau “physic nut” (Okullo *et al.*, 2012). India menyebut tanaman ini dengan “*jangali yerend*”. Di Yoruba suku Nigeria menyebutnya dengan “Lapalapa”.

2.1.3. Morfologi Tanaman

Jarak merah adalah tanaman semak yang memiliki akar dangkal. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa tanaman ini dapat hidup lebih dari 10 tahun, dengan bukti anekdot menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki rentang hidup hingga lebih dari 20 tahun. Semak umumnya tumbuh dengan tinggi 2 meter, dan dapat tumbuh hingga 4 meter pada keadaan yang baik. Jarak merah biasanya tumbuh secara simpodial, yang berarti tanaman ini memiliki beberapa cabang yang dapat tumbuh setiap saat bahkan jika batang utama telah rusak. Bunga kecil, berwarna merah. Buah berbentuk kapsul, dengan panjang sekitar 1,3 cm (Randall *et al.*, 2009).

Daun Jarak merah memiliki 3-5 lobus dengan ukuran 4,5-9 cm hingga 5-13 cm. Batas daun bergerigi sangat halus dan bertepi. Daun tumbuh pada panjang batang 2-7 cm, yang ditutupi bulu halus. Warna daun tergantung pada biotipe dan usia daun, berkisar dari hijau hingga merah tua, merah atau ungu. Tanaman ini menggugurkan sebagian besar daunnya pada musim kemarau, meskipun tanaman ini hidup di daerah lembab seperti disepanjang sungai ataupun bendungan. Daun yang tersisa biasanya adalah daun muda dan ditemukan pada pucuk batang. Pertumbuhan sering dimulai pada bulan September atau Oktober saat suhu meningkat. Daun kecil dapat diproduksi bahkan tanpa adanya curah hujan (Randall *et al.*, 2009).

2.1.4. Daerah Asal dan Penyebaran Tanaman

Tanaman *Jatropha gossypifolia* dikenal sebagai keluarga eurphorbiaceae. Tanaman ini berasal dari Brazil dan sekarang di budidayakan di negara-negara tropis di seluruh dunia (Karthikeyan, R, 2012). Tumbuhan ini mudah beradaptasi

dengan lingkungan tumbuhnya. Dapat tumbuh pada tanah yang subur tetapi memiliki drainase atau penyaluran air yang baik, tidak tergenang, dan memiliki pH tanah 5,0 sampai 6,5. Tumbuhan jarak dapat tumbuh pada ketinggian sekitar 20 m dari permukaan laut dan merupakan tanaman tahunan, dapat ditemukan pada daerah curah hujan 750-2000 mm curah tahunan, tumbuh pada kelembaban kejenuhan basah tinggi dan hidup pada temperatur 20°C-30°C sepanjang hidupnya.

Tumbuhan ini sudah banyak dipelihara di negara-negara tropis, subtropis, dan daerah tropis yang kering di seluruh dunia, seperti Afrika, India, Amerika. Umumnya tumbuh liar di tepi jalan dan pada tempat-tempat terbuka yang terkena sinar matahari di dataran rendah (Juliana *et al.*, 2014). Di Brazil, tanaman ini banyak tumbuh di Amazon, Caatinga, dan hutan Atlantis dan di negara-negara bagian utara, timurlaut, baratdaya, selatan dan bagian tenggara (Borges *et al.*, 2010).

2.1.5. Khasiat *Jatropha gossypifolia* L.

Tanaman *Jatropha gossypifolia* ini pada akar, batang, daun, biji dan buah pada tanaman tersebut telah banyak digunakan banyak rakyat untuk obat tradisional di bagian Afrika Barat. Batang muda pada tanaman digunakan sebagai sikat gigi serta untuk membersihkan lidah, dan juga pengobatan sariawan. Biji dari tanaman yang digiling menjadi pasta juga dapat digunakan dalam pengobatan wasir (Karthikeyan, R., 2012). Studi farmakologi menunjukkan tindakan yang signifikan dari ekstrak yang berbeda dan senyawa terisolasi sebagai antimikroba, anti-inflamasi, anti-diare, antihipertensi, dan antikanker, mendukung beberapa kegunaan tanaman tersebut (Silva, J., *et al.*, 2014).

2.1.6. Kandungan Senyawa *Jatropha gossypifolia* L.

Kandungan yang terdapat dalam tumbuhan jarak merah adalah asam lemak, gula, alkaloid asam amino, kumarin, steroid, flavonoid, lignan, protein, saponin, tannin, terpenoid dan khasiatnya sebagai antihipertensi, antiinflamasi, antiopiodan, analgesik, antipiretik, antimikroba, antianemik dan antidiabetes (Silva, J., *et al.*, 2014). Pada buah dari tanaman jarak merah (*Jatropha Gossypifolia*) mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin (Apu, *et al.*, 2013). Akar mengandung alkaloid; Daun mengandung tanin,

kalsium oksalat dan sulfur pectic substans; Batang mengandung tannin dan sulfur; Minyak dari biji jarak ini mengandung *co-carcinogenic esters* dari 12-deoxy-16-hydroxyphorbol yang berfungsi sebagai anti kanker (Hariana, 2005)

Dari senyawa tersebut yang memiliki potensi sebagai antiinflamasi adalah alkaloid, flavonoid. Flavonoid bekerja menghambat fase penting dalam biosintesis prostaglandin, yaitu pada lintasan siklooksigenase. Flavonoid juga menghambat fosfodiesterase, aldoreduktase, monoamine oksidase, protein kinase, DNA polymerase dan lipooksigenase (Robinson, 1995). Tanin diketahui mempunyai aktifitas antiinflamasi, astringen, antidiare, diuretik dan antiseptik (Khanbabaee dan Ree, 2001). Sedangkan aktivitas farmakologi saponin yang telah dilaporkan antara lain sebagai antiinflamasi, antibiotik, antifungi, antivirus, hepatoprotektor serta antiulcer (Soetan, 2006).

Flavonoid merupakan golongan senyawa bahan alam dari senyawa fenolik yang merupakan pigmen tumbuhan. Saat ini lebih dari 6.000 senyawa yang berbeda masuk dalam golongan flavonoid. Flavonoid merupakan bagian penting dari diet manusia karena banyak manfaatnya bagi kesehatan. Fungsi kebanyakan flavonoid dalam tubuh manusia adalah sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, memiliki hubungan sinergis dengan vitamin C (meningkatkan efektivitas vitamin C), antiinflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik (Barnes *et al*, 2004).

Flavonoid mencakup banyak pigmen yang paling umum dan terdapat pada seluruh dunia tumbuhan mulai dari fungus sampai angiospermae. Efek flavonoid terhadap macam-macam organisme sangat banyak macamnya dan dapat menjelaskan mengapa tumbuhan yang mengandung flavonoid dipakai dalam pengobatan tradisional. Flavonoid dapat bekerja sebagai inhibitor kuat pernapasan. Beberapa flavonoid menghambat fosfodiesterase, flavonoid lain menghambat aldoreduktase, monoamina oksidase, protein kinase, DNA polimerase dan lipooksigenase. Penghambatan lipooksigenase dapat menimbulkan pengaruh yang lebih luas karena pengaruh lipooksigenase merupakan langkah pertama pada jalur yang menuju hormon eikosanoid seperti prostaglandin dan tromboksan. Flavonoid tertentu dalam makanan tampaknya menurunkan agregasi

platelet dan dengan demikian mengurangi pembekuan darah jika dipakai pada kulit, flavonoid lain menghambat perdarahan (Robbinson, 1995).

Mekanisme flavonoid dalam menghambat terjadinya radang melalui dua cara yaitu menghambat asam arakhidonat dan sekresi enzim lisosom dari endothelial sehingga menghambat proliferasi dan eksudasi dari proses radang. Terhambatnya pelepasan asam arakhidonat dari sel inflamasi akan menyebabkan kurang tersedianya substrat arakhidonat bagi jalur siklooksigenase dan jalur lipooksigenase (Robbinson, 1995). Lisosom mengandung protease dan enzim lain. Protease lisosom merupakan salah satu mediator kimiawi inflamasi yang memiliki aktivitas enzimatik langsung, sehingga penghambatan enzim ini dapat mengurangi inflamasi (Vinay *et al*, 2007)

2.2. Ekstraksi Daun

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan penyari simplisia menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung (BPOM, 2010). Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM, 2000).

2.2.1. Maserasi

Terdapat berbagai macam cara untuk memperoleh ekstrak dari suatu tanaman, salah satunya dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi. Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang sering digunakan. Dalam maserasi tanaman yang akan diekstraksi direndam menggunakan pelarut tertentu pada suhu kamar menggunakan wadah tertutup. Pengadukan akan mempercepat proses ekstraksi komponen fitokimia pada tanaman. Kemudian dilakukan filtrasi untuk memisahkan filtrat dengan tanaman. Ekstraksi dengan maserasi memerlukan waktu yang lama, tetapi cara ini dapat digunakan pada senyawa yang tidak stabil dengan panas. Perendaman suatu bahan dalam pelarut dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel dalam 3 tahapan, yaitu masuknya pelarut ke dalam dinding sel tanaman dan membengkakkan sel, kemudian senyawa yang terdapat

dalam dinding sel akan terlepas dan masuk ke dalam pelarut, diikuti oleh difusi senyawa yang terekstraksi oleh pelarut keluar dari dinding sel (Supriadi, 2008).

Dalam penelitian ini, digunakan dua metode maserasi, yaitu :

Maserasi Kinetik

Maserasi kinetik merupakan cara maserasi dengan menggunakan mesin pengaduk yang berputar terus-menerus (kontinu). Waktu proses maserasi dapat dipersingkat 6-24 jam. Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50 °C (Ditjen POM, 2000).

2.2.2. Tinjauan tentang Pelarut

Pemilihan pelarut yang tepat dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut diantaranya adalah selektivitas, toksisitas, kepolaran, kemudahan untuk diuapkan, dan harga pelarut (Akbar, 2010). Etil asetat merupakan pelarut dengan toksisitas rendah yang bersifat semi polar sehingga diharapkan dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar.

2.2.3. Tinjauan tentang Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan fitokimia. Lapisan yang memisahkan, yang terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang dipisah berupa larutan, ditotolkan berupa bercak. Setelah pelat atau lapisan ditaruh di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi). Untuk campuran yang tidak diketahui, lapisan pemisah (sifat penyerap) dan sistem larutan pengembang harus dipilih dengan tepat karena keduanya bekerja sama untuk mencapai pemisahan. Selain itu hal yang harus diperhatikan adalah memilih kondisi kerja yang optimum yang meliputi sifat pengembangan, atmosfer bejana dan lain-lain. Harga R_f dapat dicari dengan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solute}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}} \quad (\text{Stahl, 1985})$$

a. Fase Diam

Fase diam merupakan lapisan penyerap, lapisan dibuat dari salah satu penyerap yang khusus digunakan untuk KLT. Sebelum digunakan, lapisan disimpan dalam lingkungan yang tidak lembab dan bebas dari uap laboratorium. Penyerap yang umum digunakan adalah silika gel, alumunium oksida, selulosa, dan poliamida. Yang sering digunakan adalah silika gel (Stahl, 1985).

b. Fase Gerak

Fase gerak adalah medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Pelarut bergerak dalam fase diam, yaitu suatu lapisan berpori, karena ada gaya kapiler. Yang digunakan hanyalah pelarut bertingkat atau analitik bila diperlukan, sistem pelarut multi komponen ini harus berupa suatu campuran sesederhana mungkin yang terdiri atas maksimum tiga komponen. Contoh pelarut yang sering digunakan untuk kromatografi lapis tipis adalah nheksana, heptana,msikloheksana, benzena, kloroform, eter, etil asetat, aseton,metanol, metanol, dan air. (Stahl, 1985).

Beberapa keuntungan KLT adalah dalam pelaksanaannya lebih muda dan lebih murah dibandingkan dengan kromatografi kolom. Demikian juga peralatan yang digunakan lebih sederhana. Beberapa keuntungan lain dari kromatografi planar:

- a. KLT telah banyak digunakan untuk tujuan analisis
- b. Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluoresensi, atau radiasi dengan menggunakan ultra violet.
- c. Dapat dilakukan elusi secara menarik, menurun atau dengan cara elusi 2 dimensi.
- d. Ketetapan penentuan kadar akan lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tidak bergerak (Sastrohamidjojo, 1985)

2.3. Tinjauan Metode Pengujian Antiinflamasi

Pengujian antiinflamasi pada tikus dapat dilakukan menggunakan metode pengujian sebagai berikut :

1. Tes formalin

Mencit galur ICR jantan (18-25 gr) dikelompokkan secara acak kedalam 4 grup (n=8). Termasuk ke dalamnya kelompok normal dan

positif kontrol dan kelompok sample uji. Kelompok kontrol hanya diberi pembawa, positif kontrol, indometasin (10 mg/kg ip) dilarutkan dalam tween 80 plus 0.9% (w/v) larutan salin dan diberikan secara IP pada volume 0.1 ml / 10 g. Satu jam sebelum pengujian, hewan ditempatkan pada kandang standar (ukuran 30x12x13 cm) yang digunakan sebagai tempat observasi. Sampel diberikan secara peroral 60 menit sebelum injeksi formalin. Indometasin diadministrasikan 30 menit sebelum injeksi formalin. 20 µl formalon 1% disuntikkan pada permukaan dorsal dari tapak kaki kanan dan waktu tapak kaki meregang dicatat. 5 menit setelah injeksi formalin disebut fase awal, dan waktu 15-40 menit disebut fase akhir. Waktu yang dibutuhkan untuk meregangkan tapak kaki dihitung dengan stopwatch. Aktivitas diukur dalam interval waktu 5 menit.

2. λ -carrageenin sebagai penginduksi edema pada tapak kaki

Mencit jantan galur ICR (18-25 gr) dipuasakan 24 jam sebelum masa percobaan dengan tetap diberi minum. 50 µl suspensi 1% karagenan dilarutkan dalam larutan salin disuntikkan pada tapak kaki kanan mencit. Sampel dan indometasin dilarutkan dalam tween 80 plus 0.9% (w/v) larutan salin. Konsentrasi final dari tween 80 tidak boleh lebih dari 5% dan tidak menyebabkan inflamasi yang berarti. 2 jam sebelum diinduksi, diberikan sampel dengan 2 tingkatan dosis secara oral. Indometasin (10 mg/kg ip) disuntikkan 90 menit sebelum induksi. Edema pada tapak kaki segera dihitung setelah injeksi karagenan (interval waktu 1,2,3,4,5,6 jam) dengan menggunakan pletismometer. Derajat edema dievaluasi dengan rasio a/b,

a = volume tapak kaki kanan setelah induksi karagenan;

b = volume tapak kaki kanan sebelum induksi karagenan.

3. Metode Panas

a. Tes Hot plate

Metode ini dengan menggunakan hot plate yang suhunya $55 \pm 1^\circ\text{C}$.

Waktu terjadi reaksi basal hewan terhadap panas dicatat. Hewan yang menunjukkan respon melompat dalam waktu 6-8 detik

dimasukkan kedalam kelompok percobaan. 60 menit setelah administrasi senyawa uji dan positif kontrol, hewan dikelompokkan kedalam 6 grup dimana masing-masingnya ditaruh pada hot plate. Waktu sampai terjadi lompat hewan coba disebut waktu reaksi. Persentasi inhibisi sakit dihitung dengan rumus:

$$(PIP) = ((T_1 - T_0) / T_0) \times 100$$

T_1 = waktu setelah diberi obat dan T_0 = sebelum diberi obat

b. *Tes menarik ujung ekor*

Waktu reaksi basal hewan uji terhadap panas dicatat dengan meletakkan ujung ekor (jarak 1-2 cm paling ujung) pada sumber panas. Respon dilihat ketika hewan menarik ekor dari sumber panas. Hewan yang menunjukkan respon dalam 3-5 detik dimasukkan kedalam percobaan. Periode waktu pengamatan selama 15 detik. Waktu pengamatan dilakukan setelah 30 dan 60 menit administrasi obat. Persentase inhibisi dihitung dengan rumus:

$$(PIP) = ((T_1 - T_0) / T_0) \times 100$$

T_1 = waktu setelah diberi obat dan T_0 = sebelum diberi obat

5. Etil fenil propionate sebagai penginduksi edem pada telinga tikus

Tikus jantan (100-150 gr) digunakan sebagai hewan coba. Edema telinga diinduksi mengoleskan secara topikal EEP dengan dosis 1 mg/20 µl pertelinga pada bagian permukaan dan dalam kedua telinga dengan menggunakan pipet otomatis. Sampel uji juga dioleskan pada telinga dengan volume yang sama seperti EEP. Waktu sebelum, 30 menit, 1 jam dan 2 jam merupakan waktu pengamatan setelah induksi. Ketebalan telinga diukur jangka sorong.

6. Putih telur sebagai penginduksi edema

Empat grup tikus wistar jantan dan betina diberikan : grup 1, 10% propilenglikol, grup 2 dan 3 sampel uji, dan grup 4 diberikan natrium diklofenak sebagai kontrol positif (100 mg/kg po). Setelah 30 menit, masing-masing kelompok disuntikkan dengan putih telur sebanyak 0.5 ml pada tapak kaki kiri. Digunakan pletismometer digital untuk

mengukur volume kaki yang mengalami edema dalam periode 120 menit. Dengan interval 30, 60, 90 dan 120 menit.

2.4. Inflamasi

2.4.1. Definisi Inflamasi

Inflamasi atau peradangan adalah reaksi jaringan hidup terhadap cedera yang terdiri dari respon sistemik dan lokal. Ketergantungan kita pada obat lokal dan kemajuan yang luar biasa pada obat sintesis (Nagaharika, Y, *et al.*, 2013).

Inflamasi merupakan respons protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan jaringan, yang berfungsi menghancurkan, mengurangi, atau mengurung (sekuestrasi) baik agen pencedera maupun jaringan yang cedera itu (Dorland, 2002).

Inflamasi (peradangan) merupakan reaksi kompleks pada jaringan ikat yang memiliki vaskularisasi akibat stimulus eksogen maupun endogen. Dalam arti yang paling sederhana, inflamasi adalah suatu respon protektif yang ditujukan untuk menghilangkan penyebab awal jejas sel serta membuang sel dan jaringan nekrotik yang diakibatkan oleh kerusakan sel (Robbins, 2004).

Penyebab inflamasi antara lain mikroorganisme, trauma mekanis, zat-zat kimia, dan pengaruh fisika. Tujuan akhir dari respon inflamasi adalah menarik protein plasma dan fagosit ke tempat yang mengalami cedera atau terinfeksi agar dapat mengisolasi, menghancurkan, atau menginaktifkan agen yang masuk, membersihkan debris dan mempersiapkan jaringan untuk proses penyembuhan (Corwin, 2008).

Respon inflamasi terjadi dalam tiga fase dan diperantarai oleh mekanisme yang berbeda :

- a. fase akut, dengan ciri vasodilatasi lokal dan peningkatan permeabilitas kapiler.
- b. reaksi lambat, tahap subakut dengan ciri infiltrasi sel leukosit dan fagosit.
- c. fase proliferasi kronik, dengan ciri terjadinya degenerasi dan fibrosis (Wilmana, 2007).

2.4.2. Tanda-tanda Inflamasi

Respon antiinflamasi meliputi kerusakan mikrovaskular, meningkatnya permeabilitas kapiler dan migrasi leukosit ke jaringan radang. Gejala proses inflamasi yang sudah dikenal ialah:

1. Kemerahan (rubor)

Terjadinya warna kemerahan ini karena arteri yang mengedarkan darah ke daerah tersebut berdilatasi sehingga terjadi peningkatan aliran darah ke tempat cedera (Corwin, 2008).

2. Rasa panas (kalor)

Rasa panas dan warna kemerahan terjadi secara bersamaan. Dimana rasa panas disebabkan karena jumlah darah lebih banyak di tempat radang daripada di daerah lain di sekitar radang. Fenomena panas ini terjadi bila terjadi di permukaan kulit. Sedangkan bila terjadi jauh di dalam tubuh tidak dapat kita lihat dan rasakan (Wilmana, 2007).

3. Rasa sakit (dolor)

Rasa sakit akibat radang dapat disebabkan beberapa hal: (1) adanya peregangan jaringan akibat adanya edema sehingga terjadi peningkatan tekanan lokal yang dapat menimbulkan rasa nyeri, (2) adanya pengeluaran zat – zat kimia atau mediator nyeri seperti prostaglandin, histamin, bradikinin yang dapat merangsang saraf – saraf perifer di sekitar radang sehingga dirasakan nyeri (Wilmana, 2007).

4. Pembengkakan (tumor)

Gejala paling nyata pada peradangan adalah pembengkakan yang disebabkan oleh terjadinya peningkatan permeabilitas kapiler, adanya peningkatan aliran darah dan cairan ke jaringan yang mengalami cedera sehingga protein plasma dapat keluar dari pembuluh darah ke ruang interstitium (Corwin, 2008).

5. Fungsi laesa

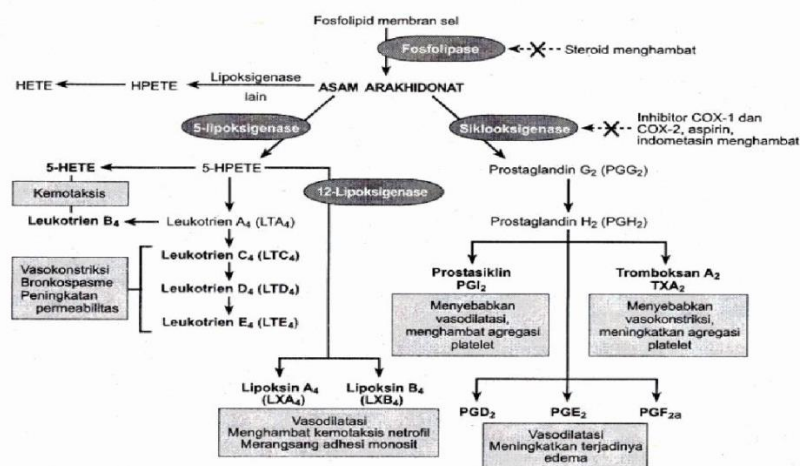
Fungsi laesa merupakan gangguan fungsi dari jaringan yang terkena inflamasi dan sekitarnya akibat proses inflamasi. (Wilmana, 2007).

Selama berlangsungnya respon inflamasi banyak mediator kimiawi yang dilepaskan secara lokal antara lain histamin, 5-hidroksitriptamin (5HT), faktor

kemotaktik, bradikinin, leukotrien dan prostaglandin (PG). Dengan migrasi sel fagosit ke daerah ini, terjadi lisis membran lisozim dan lepasnya enzim pemecah. Obat mirip aspirin dapat dikatakan tidak berefek terhadap mediator-mediator kimiawi tersebut kecuali PG (Wilmana, 2007).

2.4.3. Mekanisme Terjadinya Inflamasi

Terjadinya inflamasi adalah reaksi setempat dari jaringan atau sel terhadap suatu rangsang atau cedera. Setiap ada cedera, terjadi rangsangan untuk dilepaskannya zat kimia tertentu yang akan menstimulasi terjadinya perubahan jaringan pada reaksi radang tersebut, diantaranya adalah histamin, serotonin, bradikinin, leukotrien dan prostaglandin. Histamin bertanggung jawab pada perubahan yang paling awal yaitu menyebabkan vasodilatasi pada arterioli yang didahului dengan vasokonstriksi awal dan peningkatan permeabilitas kapiler. Hal ini menyebabkan perubahan distribusi sel darah merah. Oleh karena aliran darah yang lambat, sel darah merah akan menggumpal, akibatnya sel darah putih terdesak ke pinggir. Makin lambat aliran darah maka sel darah putih akan menempel pada dinding pembuluh darah makin lama makin banyak. Perubahan permeabilitas yang terjadi menyebabkan cairan keluar dari pembuluh darah dan berkumpul dalam jaringan. Bradikinin bereaksi lokal menimbulkan rasa sakit, vasodilatasi, meningkatkan permeabilitas kapiler. Sebagai penyebab radang, prostaglandin berpotensi kuat setelah bergabung dengan mediator lainnya (Lumbanraja, L.B., 2009).



Gambar 2.2 Pembentukan metabolit asam arakidonat dan peranan dalam inflamasi (Robbins, 2004).

Asam arakhidonat merupakan prekursor dari sejumlah besar mediator inflamasi. Senyawa ini merupakan mediator inflamasi, senyawa ini merupakan komponen utama lipid seluler dan hanya terdapat dalam keadaan bebas dengan jumlah kecil yang sebagian besar berada dalam fosfolipid membran sel. Bila membran sel mengalami kerusakan oleh suatu rangsangan maka enzim fosfolifase diaktivasi untuk mengubah fosfolipid tersebut menjadi asam arakhidonat, kemudian sebagian diubah oleh enzim siklooksigenase atau COX dan seterusnya menjadi prostagladin, prostasiklin dan tromboksan. Bagian lain dari asam arakhidonat diubah oleh enzim lipooksigenase menjadi leukotrin. Siklooksigenase terdiri dari dua iso enzim, COX 1 dan COX 2. Iso enzim COX 1 terdapat kebanyakan di jaringan seperti ginjal, paru-paru, platelet dan saluran cerna sedangkan COX 2 tidak terdapat di jaringan, tetapi dibentuk selama proses peradangan oleh sel-sel radang. Leukotrin yang dibentuk melalui alur lipooksigenase yaitu LTA_4 yang tidak stabil yang kemudian oleh hidrolase diubah menjadi LTB_4 atau LTC_4 , yang terakhir bisa diubah menjadi LTD_4 dan LTE_4 , selain pada rema, leukotrin juga berperan pada proses peradangan dan alergi pada asma. Leukotrin dibentuk digranulosit eosinofil dan berkhasiat sebagai vasokonstriksi di bronkhus dan mukosa lambung. Khusus LTB_4 disintesa di makrofag dan bekerja menstimulasi migrasi leukosit. Mediator-mediator ini dinamakan *slow reacting substance of anaphylaxis* (SRS-A) (Tjay, 2002).

2.4.4. Mediator Inflamasi

Substansi yang dikeluarkan secara endogen sebagai respon terhadap peradangan dikenal dengan nama Mediator. Mediator-mediator tersebut adalah histamin, bradikinin, kalidin, serotonin, prostaglandin dan leukotrin.

Histamin merupakan mediator pertama yang dilepaskan dan segera muncul dalam beberapa detik yang menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler. Histamin bekerja pada dua reseptor yang berbeda yang disebut reseptor H_1 dan reseptor H_2 . Stimulasi reseptor H_1 menimbulkan vasokonstriksi pembuluh darah besar, kontraksi otot bronkhus, otot usus dan otot uterus. Stimulasi reseptor H_2 menyebabkan dilatasi pembuluh paru-paru, meningkatkan frekuensi jantung dan kenaikan kontraktilitas jantung serta kenaikan sekresi kelenjar terutama dalam mukosa lambung. Histamin merupakan produk dekarboksilasi dari asam amino

histidin yang terdapat dalam semua jaringan tubuh. Konsentrasi tertinggi terdapat dalam paru-paru, kulit dan dalam saluran cerna. Histamin akan dibebaskan dari sel-sel pada reaksi hipersensitivitas, rusaknya sel (misalnya pada luka) serta akibat senyawa kimia pembebas histamin.

Bradikinin dan kalidin merupakan mediator yang dapat bereaksi lokal menimbulkan rasa sakit, vasodilatasi, meningkatkan permeabilitas kapiler dan berperan meningkatkan potensi prostaglandin.

Serotonin (5-HT) berasal dari asam amino esensial triptamin melalui hidroksilasi dan dekarboksilasi, terdapat dalam platelet darah, mukosa usus dan di beberapa bagian otak. Pada trombosit berfungsi meningkatkan agregasi dan mempercepat penggumpalan darah sehingga mempercepat hemostatis (Mutschler, 1999).

Prostaglandin hanya berperan pada nyeri yang berkaitan dengan kerusakan jaringan atau radang. Prostaglandin sebagai penyebab radang bekerja lemah, namun berpotensi kuat setelah bergabung dengan mediator atau substansi lainnya yang dibebaskan secara lokal, seperti histamin, serotonin dan leukotrien. Prostaglandin dapat menimbulkan vasodilatasi, dan meningkatkan aliran darah lokal (Ganiswarna, 1995).

2.5. Antiinflamasi

Antiinflamasi adalah sebutan untuk obat yang bekerja melawan atau menekan proses peradangan (Dorlan, 2002). Terdapat tiga mekanisme yang digunakan untuk menekan peradangan yaitu pertama penghambatan enzim siklooksigenase. Siklooksigenase mengkatalisa sintesis pembawa pesan kimia yang poten yang disebut prostaglandin, yang mengatur peradangan, suhu tubuh, analgesia, agregasi trombosit dan sejumlah proses lain. Mekanisme kedua untuk mengurangi peradangan melibatkan penghambatan fungsi-fungsi imun. Dalam proses peradangan, peran prostaglandin adalah untuk memanggil sistem imun. Infiltrasi jaringan lokal oleh sel imun dan pelepasan mediator kimia oleh sel-sel seperti itu menyebabkan gejala peradangan (panas, kemerahan, nyeri). Mekanisme ketiga untuk mengobati peradangan adalah mengantagonis efek kimia yang dilepaskan oleh sel-sel imun. Histamin, yang dilepaskan oleh sel mast dan basofil

sebagai respon terhadap antigen, menyebabkan peradangan dan konstiksi bronkus dengan mengikat respon histamin pada sel-sel bronkus. (Olson, 2003).

2.5.1 Antiinflamasi Steroid

Golongan steroid bekerja dengan cara menghambat pelepasan prostaglandin melalui penghambatan metabolisme asam arakhidonat. Dalam klinik umumnya kortikosteroid dibedakan menjadi 2 golongan besar, yaitu glukokortikoid dan mineralokortikoid. Efek terapeutik glukokortikoid yang paling penting adalah kemampuannya untuk mengurangi respon peradangan secara dramatis. Efek ini didapat dari proses penurunan dan penghambatan limfosit serta makrofag perifer A_2 secara tidak langsung yang menghambat pelepasan asam arakhidonat, prekursor prostaglandin dan leukotrien. (Mycek, 2001).

Setelah pemberian dosis tunggal glukokortikoid bekerja singkat dengan konsentrasi neutrofil meningkat yang menyebabkan pengurangan jumlah sel pada daerah peradangan. (Katzung, 2002).

2.5.2. Antiinflamasi Non Steroid

AINS (Anti-Inflamasi Non-Steroid) berkhasiat analgetis, antipiretis, serta anti radang (antiflogistis), dan sering sekali digunakan untuk menghalau gejala penyakit rema. Obat ini efektif untuk peradangan lain akibat trauma (pukulan, benturan, kecelakaan), juga misalnya setelah pembedahan, atau pada memar akibat olahraga. Obat ini dipakai pula untuk mencegah pembengkakan bila diminum sedini mungkin dalam dosis yang cukup tinggi (Tan, H.T., 2002).

Pembagian obat-obat Anti-Inflamasi Non Steroida :

1. Asam Karboksilat
 - a. Asam asetat : - Derivat Asam Fenilasetat, misalnya Diklofenak dan Fenklofenak.
- Derivat Asam Asetal-inden/indol, misalnya Indometasin, Sulindak dan Tolmetin.
 - b. Derivat Asam Salisilat, misalnya Aspirin, Salisilat, Benorilat dan Diflunisal.
 - c. Derivat Asam Propionat, misalnya Asam Tiaprofenat, Fenbufen, Fenoprofen, Flurbiprofen, Ibuprofen, Ketoprofen dan Naproksen.
 - d. Derivat Asam Fenamat, misalnya Asam mefenamat, Meklofenamat.

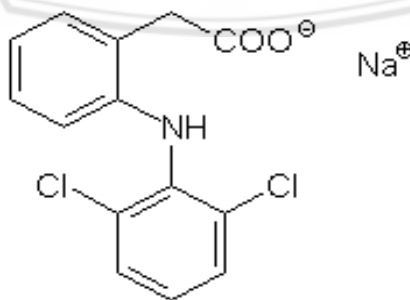
2. Asam Enolat

- a. Derivat Pirazonon, misalnya Azapropazon, Oksifenbutazon dan Fenilbutazon.
- b. Derivat Oksikam, misalnya Piroksikam dan Tenoksikam

Cara kerja NSAIDs untuk sebagian besar berdasarkan hambatan sintesa prostaglandin, dimana kedua jenis cyclo-oxygenase diblokir. NSAIDs ideal hendaknya hanya menghambat COX-2 (peradangan) dan tidak COX-1 (perlindungan mukosa lambung), lagi pula menghambat lipo-oxygenase (pembentukan leukotrien). Walaupun dilakukan daya upaya intensif sejak akhir tahun 1980-an hingga kini obat ideal demikian belum ditemukan. Dewasa ini hanya tersedia tiga obat dengan kerja agak selektif, artinya lebih kuat menghambat COX-2 daripada COX-1, yakni COX-2 inhibitors agak baru nabumeton dan meloxicam. Dari obat baru celecoxib diklaim tidak menghambat COX-1 sama sekali pada dosis bias, tetapi efek klinisnya mengenai iritasi mukosa lambung masih perlu dibuktikan. Banyak riset sedang dilakukan pula untuk mengembangkan antagonis leukotrien yang dapat digunakan sebagai obat anti radang pada rema dan asma (Tan, H.T., 2002).

2.6. Na Diklofenak

Rumus bangun :



Diclofenac-Natrium

Gambar 2.3 Struktur Kimia

Rumus molekul	: C ₁₄ H ₁₀ Cl ₂ NNaO ₂
Berat molekul	: 318,13
Nama kimia	: asam benzeneasetat, 2-[(2,6-diklorofenil)amino]-monosodium
Nama lain	: Sodium [o-(dikloroanilino)fenil]asetat

Pemerian	: serbuk hablur, berwarna putih, tidak berasa (USP 30 NF 25, 2007).
Kelarutan	: Sedikit larut dalam air, larut dalam alkohol; praktis tidak larut dalam kloroform dan eter; bebas larut dalam alkohol metil. pH larutan 1% dalam air adalah antara 7.0 dan 8. (Martindale 36, 2009).
pKa	: 4,2 (Clarke's, 2005)

Diklofenak adalah turunan asam fenilasetat sederhana yang menyerupai florbiprofen maupun meklofenamat. Obat ini adalah penghambat siklooksigenase yang kuat dengan efek anti inflamasi, analgesik dan anti piretik. Diklofenak cepat diabsorpsi setelah pemberian oral dan mempunyai waktu paruh yang pendek. Seperti flurbiprofen, obat ini berkumpul di cairan sinovial. Potensi diklofenak lebih besar dari pada naproksen. Obat ini dianjurkan untuk kondisi peradangan kronis seperti artritis rematoid dan osteoartritis serta untuk pengobatan nyeri otot rangka akut (Katzung, 2004).

Mekanisme kerjanya, bila membran sel mengalami kerusakan oleh suatu rangsangan kimiawi, fisik, atau mekanis, maka enzim fosfolipase diaktifkan untuk mengubah fosfolipida menjadi asam arachidonat. Asam lemak poli-tak jenuh ini kemudian untuk sebagian diubah oleh enzim cyclo-oksigenase menjadi endoperoksida dan seterusnya menjadi prostaglandin. Cyclo-Oksigenase terdiri dari dua iso-enzim, yaitu COX-1 (tromboxan dan prostacyclin) dan COX-2 (prostaglandin). Kebanyakan COX-1 terdapat di jaringan, antara lain dipelat-pelat darah, ginjal dan saluran cerna. COX-2 dalam keadaan normal tidak terdapat di jaringan tetapi dibentuk selama proses peradangan oleh sel-sel radang. Penghambatan COX-2 lah yang memberikan efek anti radang dari obat NSAIDs. NSAID yang ideal hanya menghambat COX-2 (peradangan) dan tidak COX-1 (perlindungan mukosa lambung).

Diklofenak merupakan obat NSAIDs (Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs) yang bersifat tidak selektif dimana kedua jenis COX di blokir. Dengan dihambatnya COX-1, dengan demikian tidak ada lagi yang bertanggung jawab melindungi mukosa lambung-usus dan ginjal sehingga terjadi iritasi dan efek toksik pada ginjal (Tjay dan Rahardja, 2002).

2.7. Tinjauan Hewan Coba

Hewan percobaan yang umum digunakan dalam penelitian ilmiah adalah tikus. Tikus (*Rattus norvegicus*) telah diketahui sifat-sifatnya secara sempurna, mudah dipelihara, dan merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk berbagai penelitian. Ciri-ciri morfologi *Rattus norvegicus* antara lain memiliki berat 150-600 gram, hidung tumpul dan badan besar dengan panjang 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm (Depkes, 2013).

Berikut ini adalah tabel volume maksimum larutan oral yang diberikan kepada hewan coba.

Tabel 2.1. Volume Maksimum Larutan Obat yang Diberikan Kepada Hewan Coba (Dinda, 2010).

Batas Volume Maksimum (ml) yang Diberikan Kepada Hewan Uji	Volume maksimal (ml) sesuai jalur pemberian				
	i.v	i.m	i.p	s.c	p.o
Mencit (20-30 g)	0,5	0,05	1,0	0,5-1,0	1,0
Tikus (100 g)	0,1	0,1	2-5,0	2,0-5,0	5,0
Hamster (50 g)	-	0,1	1-2,0	2,5	2,5
Marmut (250 g)	-	0,25	2-5	5,0	10,0
Kelinci (2,5 kg)	5-10,0	0,5	10-20,0	5-10,0	20,0
Kucing (3 kg)	5-10,0	1,0	10-20,0	5-10,0	50,0
Anjing (5 kg)	10-20,0	5,0	20-30	10,0	100,0

Berikut ini adalah tabel konversi perhitungan dosis untuk berbagai jenis hewan dan manusia.

Tabel 2.2 Konversi Perhitungan Dosis untuk Berbagai Jenis Hewan dan Manusia (Dinda, 2010).

Hewan percobaan	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20g	1,0	7,0	12,25	27,8	29,7	387,9
Tikus 200g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	56,0
Marmut 400g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	31,5
Kelinci 1,5kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	13,2
Manusia 70kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	1,0

Rattus norvegicus galur Sprague Dawley umumnya digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian karena memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan manusia, yakni termasuk ke dalam kelas mamalia. Oleh karena itu, tikus sering dijadikan model penelitian aplikasi kesehatan manusia karena terdapat persamaan fisiologis. Selain itu, sifat-sifat *Rattus norvegicus* galur Sprague Dawley telah diketahui dengan jelas, antara lain: mudah dipelihara dalam jumlah besar, cepat berkembang biak dan tidak rentan terhadap infeksi bakteri dan virus (UW AUTP, 2009).

Tikus yang digunakan dalam penelitian adalah galur Sprague Dawley berjenis kelamin jantan dewasa, yaitu berumur minimal kurang lebih 2 bulan. Tikus Sprague Dawley dengan jenis kelamin betina tidak digunakan karena kondisi hormonal yang sangat berfluktuasi pada saat mulai beranjak dewasa, sehingga dikhawatirkan akan memberikan respon yang berbeda dan dapat mempengaruhi hasil penelitian. Tikus putih galur ini mempunyai daya tahan terhadap penyakit dan cukup agresif dibandingkan dengan galur lainnya (Harkness *et al.*, 1983).

2.7.1. Klasifikasi tikus (*Rattus novergicus*) dalam taksonomi (Depkes, 2013) :

Dunia	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Subklas	: Theria
Ordo	: Rodentia
Sub ordo	: Myomorpha
Famili	: Muridae
Sub famili	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: Rattus novergicus

2.8 Karagenin

Iritan yang digunakan untuk pengujian efek antiinflamasi beragam jenisnya, satu diantaranya adalah karagenin. Karagenin merupakan polisakarida hasil ekstraksi rumput laut dari family Eucheuma, Chondrus dan Gigartina. Bentuknya berupa serbuk berwarna putih hingga kuning kecoklatan, ada yang berbentuk butiran kasar hingga serbuk halus, tidak berbau, serta memberi rasa berlendir di lidah. Karagenin juga memiliki sifat larut dalam air bersuhu 80°C (Rowe *et al.*, 2009).

Karagenin berperan dalam pembentukan edema dalam model inflamasi akut. Karagenin dipilih karena dapat menstimulasi pelepasan prostaglandin setelah disuntikkan ke hewan uji. Oleh karena itu, karagenin dapat digunakan sebagai iritan dalam metode uji yang bertujuan untuk mencari obat-obat antiinflamasi, tepatnya yang bekerja dengan menghambat sintesis prostaglandin (Singh *et al.*, 2008).

Ada tiga fase pembentukan edema yang diinduksi oleh karagenin. Fase pertama adalah pelepasan histamin dan serotonin yang berlangsung hingga 90 menit. Fase kedua adalah pelepasan bradikinin yang terjadi pada 1,5 hingga 2,5 jam setelah induksi. Pada fase ketiga, terjadi pelepasan prostaglandin pada 3 jam setelah induksi, kemudian edema berkembang cepat dan bertahan pada volume maksimal sekitar 5 jam setelah induksi. (Morris, 2003). Berdasarkan penelitian

terdahulu, yang berperan dalam proses pembentukan edema adalah prostaglandin yang terbentuk melalui proses biosintesis prostaglandin. Senyawa ini dilepaskan lalu bereaksi dengan jaringan di sekitarnya dan menyebabkan perubahan pada pembuluh darah yang merupakan awal mula terjadinya edema (Vinegar *et al.*, 1976).

